

Travail du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Lyon et de l'Institut Bactériologique de Lyon

Recherches sur la flore microbienne
de la thermofermentation
des ordures ménagères

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 27 Janvier 1939

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Emilienne PÉRIER

Docteur en Pharmacie

Diplômée de Microbiologie et d'Hygiène

Apte à l'Inspection Médicale Scolaire

et au Contrôle de l'Education Physique

Prix de Thèse de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon (1937)

Assistante à l'Institut Bactériologique de Lyon

Née le 16 Mars 1912, à CHAUFFAILLES (Saône-et-Loire)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

—
1939

**Recherches sur la flore microbienne
de la thermofermentation des ordures ménagères**

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1938-1939 — N° 51

Travail du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Lyon et de l'Institut Bactériologique de Lyon

Recherches sur la flore microbienne
de la thermofermentation
des ordures ménagères

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTE de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 27 Janvier 1939

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Emilienne PÉRIER

Docteur en Pharmacie

Diplômée de Microbiologie et d'Hygiène

Apte à l'Inspection Médicale Scolaire

et au Contrôle de l'Education Physique

Prix de Thèse de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon (1937)

Assistante à l'Institut Bactériologique de Lyon

Née le 16 Mars 1912, à CHAUFFAILLES (Saône-et-Loire)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

—
1939

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire M. L. HUGOUNENQ
Doyen M. J. LEPINE.
Assesseur M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN,
PAVIOT, NICOLAS, VILLARD,, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET

PROFESSEURS

Cliniques médicales	}	MM. FROMENT.
Cliniques chirurgicales	}	SAVY.
Clinique obstétricale et Accouchements		PATEL.
Clinique ophtalmologique		BERARD.
Cliniques dermatologique et syphiligraphique		VORON.
Clinique neurologique et psychiatrique ..		BONNET.
Clinique médicale infantile		FAVRE.
Clinique gynécologique.....		LEPINE (J.).
Clinique Oto-rhino-laryngologie		MOURIQUANL
Clinique urologique.....		COTTE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		REBATTU.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose		CIBERT.
Clinique des maladies infectieuses		TAVERNIER.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie		COURMONT
Chimie biologique et médicale		J. CHALIER
Chimie organique et Toxicologie		PONTHUS.
Matière médicale et Botanique		FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale		MOREL.
Anatomie		MANCEAU.
Histologie		GUIART.
Physiologie		LATARJET
Pathologie interne		POLICARD.
Pathologie générale et thérapeutique		HERMANN.
Anatomie pathologique		CORDIER.
Chirurgie opératoire		CADE.
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie		J.-F. MARTIN.
Médecine légale		X...
Hygiène		ARLOING (F.)
Pharmacie et Pharmacologie		Etienne MARTIN
Hydrologie thérapeutique et Climatologie		ROCHAIX.
		LEULIER.
		PIERY.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale MM. THEVENOT (Léon,
Chargé d'un cours d'Embryologie NOEL.

AGREGES

MM. GABRIELLE DECHAUME BERNHEIM POLLOSSON CHAMBON EPARVIER	MM. GUILLEMINET MORENAS REVOL ENSELME SEDALLIAN CREYSEL	MM. DE ROUGEMONT P. RAVAUULT PIGEAUD CROIZAT DELORE JOSSERAND	MM. MORIN BERTRAND CLAVEL LEVRAT
--	---	---	--



EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. ROCHAIX, président ; MOREL, assesseur ;
CHAMBON et SEDALLIAN.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA GRAND'MERE

A MA MERE

Témoignage de très profonde affection.

A TOUS LES MIENS

A MADAME ET MONSIEUR LE DOCTEUR F. BOST

Docteur en Médecine et Pharmacie

Docteur ès-sciences

Chevalier de la Légion d'Honneur

A CEUX QUI ME SONT CHERS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. ROCHAIX

Professeur d'Hygiène

Sous-Directeur de l'Institut bactériologique

Membre du Conseil Supérieur d'Hygiène de France

Conseiller technique du Ministère

de la Santé publique

Chevalier de la Légion d'Honneur

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. MOREL

Professeur de Chimie organique et de Toxicologie

Membre correspondant de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'Honneur

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. CHAMBON

Pharmacien-chef des Hôpitaux de Lyon

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SEDALLIAN

Médecin des Hôpitaux

Chevalier de la Légion d'Honneur

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

ET DE PHARMACIE DE LYON

AVANT-PROPOS

Au terme de nos études, qu'il nous soit permis d'assurer tous nos maîtres de notre très respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur ROCHAIX, qui nous fait le grand honneur de présider notre thèse, fut l'animateur de ce travail. Il nous témoigna toujours une immense bienveillance. Qu'il trouve ici l'expression de notre très profonde reconnaissance et de notre bien sincère admiration.

Nous avons l'honneur d'être l'élève et la collaboratrice de Monsieur le Professeur MOREL. Nous nous permettons de lui dire combien nous lui sommes attachée et quel profond souvenir nous garderons de ces années passées dans son laboratoire. Qu'il croit à notre entier dévouement.

Monsieur le Professeur agrégé CHAMBON connaît nos sentiments de gratitude et de respectueuse amitié. Son affabilité n'a d'égale que sa haute compétence et sa rigueur scientifique.

Nous remercions très vivement Monsieur le Professeur agrégé SÉDALLIAN de la considération qu'il nous accorde en consentant à être notre juge.

Nous tenons à remercier le personnel de l'Institut Bactériologique qui nous a facilité notre tâche et en particulier le sympathique garçon DREVON qui nous fut si dévoué.

PLAN DU TRAVAIL

Chapitre premier.

LES ORDURES MÉNAGÈRES

§ I. — Danger.

§ II. — Constitution.

§ III. — Traitements des ordures ménagères. La thermofermentation.

Chapitre II.

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES BACTÉRIES THERMOPHILES

§ I. — Matériel d'étude et techniques utilisées.

§ II. — Bactéries isolées.

1. Thermobactérie A ;

2. Thermobactérie B ;

3. Thermobactérie C.

§ III. — Caractères communs et caractères différentiels de ces bactéries.

Chapitre III.

LA BACTÉRIE DE MARÉCHAL ET LES BACTÉRIES THERMOPHILES DÉJÀ DÉCRITES

Chapitre IV.

LA FLORE BACTÉRIENNE DES CELLULES ZYMOTHERMIQUES

Chapitre V.

LES BACTÉRIES PATHOGÈNES ET LA THERMOFERMENTATION

Chapitre VI.

LES BACTÉRIES THERMOPHILES ET LEUR RÔLE
DANS LA FERMENTATION DES ORDURES MÉNAGÈRES

CONCLUSIONS

Recherches sur la flore microbienne de la thermofermentation des ordures ménagères

CHAPITRE PREMIER

LES ORDURES MÉNAGÈRES

§ I. — DANGER DES ORDURES MÉNAGÈRES

La destruction des ordures ménagères constitue pour les municipalités un important problème à résoudre au double point de vue hygiénique et économique.

Nous n'insisterons pas sur le danger des ordures ménagères et sur la nécessité de les transformer en produits non seulement inoffensifs, mais encore, si possible, utilisables.

Les gadoues sont susceptibles de renfermer des germes de différentes maladies infectieuses dont la virulence peut se conserver un certain temps (40 jours pour le bacille du charbon, 20 jours pour le paratyphique B, 14 jours pour le bacille dysentérique). LAMARQUE ⁽¹⁾ nous indique, d'après WEYL, que « le quartier nord de la ville de Copenhague fut ravagé

(1) LAMARQUE. — Le problème des ordures ménagères. *Liberté du Sud-Ouest*, 30 nov. 1928. Cité d'après ALETRU.

par une épidémie de choléra. L'enquête menée par la Commission d'Hygiène, démontra que cette partie de la ville était bâtie sur un remblai formé de balayures de rues et de gadoues, et que, malgré son ancienneté remontant à 250 ans, ce remblai renfermait dans la masse des quantités de matières organiques qui se trouvaient en pleine décomposition. On expliqua l'épidémie par le fait que ce magma en putréfaction était un excellent milieu de conservation des microbes reprenant à ce moment leur virulence jusqu'alors atténuée ».

De statistiques effectuées en Allemagne, il résulte que la mortalité générale est augmentée de 13 % dans les maisons construites sur d'anciens dépôts d'ordures ménagères ⁽²⁾. Cependant d'après PARTRIDGE ⁽³⁾ les ouvriers chargés de la collecte des ordures ménagères ne présentent pas de morbidité particulière et le Docteur GINO RODELLA de GÈNES indique que certaines épidémies et, en particulier, les épidémies de typhus à GÈNES, en 1912, 1913, 1914, ne se sont pas étendues aux campagnes environnantes bien que les ordures ménagères de la ville y aient été transportées et répandues sans précaution.

Mais tous les hygiénistes sont d'accord pour reconnaître qu'elles favorisent la pullulation des mouches et des rats, agents de propagation des plus graves maladies. Le danger est accru par le volume des or-

(2) ALETRU (J.). — *Th. Doct. Méd., Paris*, 1929.

(3) PARTRIDGE (M.). — *Ann. Hyg.*, février 1937, pp. 88-97.

(4) Rapport présenté au Congrès International du Nettoyement de Francfort, 1935.

dures pour les agglomérations importantes. Les ordures ménagères, boues et immondices, représenteraient, d'après GIRARD ⁽¹⁾, chaque année à Paris, une masse de 1 million de tonnes, dont 800.000 tonnes d'ordures ménagères.

§ II. — CONSTITUTION DES ORDURES MÉNAGÈRES

Les gadoues sont constituées de produits très divers :

« 1° Des produits fermentescibles : résidus de cuisine, substances d'origine animale et végétale, balayures des rues et des jardins, paille, feuilles mortes, crottins, etc. ;

« 2° Des produits combustibles : papiers, cartons, chiffons, débris de bois, résidus de charbon, escarbilles ;

« 3° Des produits ni fermentescibles, ni combustibles : fer-blanc, boîtes de conserve, verre, cuir, os frais, cendres, terre, poussières, sables » ⁽²⁾.

La constitution des ordures ménagères subit d'importantes variations saisonnières ; en effet :

A Montréal, d'après M. DORE (1893 à 1900), elles renfermaient en pourcentage ⁽³⁾ :

(1) GIRARD (L.). — Cité d'après ALÉTRU (J.). *Th. Doct. Méd.*, Paris, 1929.

(2) BORDAS (J.). — *Ann. Hyg.*, 1931, pp. 238-262.

(3) MONDON (E.). — *Assainissement général des villes et des petites collectivités*, t. I, 1931, Paris, Dunod, éd.

	ÉTÉ	HIVER
Déchets de cuisine	65	25
Papier	15	10
Boîtes fer-blanc, bouteilles, chaus- sures, chiffons	10	5
Cendres	10	60
	100	100

On constate, d'après ce tableau, l'abondance des déchets de cuisine en été et la grosse proportion des cendres en hiver.

Les ordures collectées diffèrent aussi de constitution suivant les pays. En Angleterre, par exemple, elles sont particulièrement riches en débris de charbon, tandis qu'en Amérique, elles renferment beaucoup de graisses et de papier (les journaux quotidiens paraissant sur 24 pages).

Voici d'après BORDAS (*) la composition chimique des ordures ménagères de la ville de Paris :

Eau : varie de 30 % en hiver à 60 % en été.

Eléments minéraux	30 à 60 %
Azote	0,5 %
Acide phosphorique	0,5 %
Potasse	0,4 %

§ III. — TRAITEMENT DES ORDURES MÉNAGÈRES

La constitution hétérogène des gadoues explique la variété des méthodes utilisées pour leur transforma-

(4) BORDAS (J.). — *Ann. Hyg.*, 1931, pp. 238-262.

tion. Nous ne citerons que pour mémoire les différents traitements susceptibles d'être employés ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾. Puis nous étudierons avec quelques détails les méthodes par fermentation.

Un des procédés les plus anciens et qui est encore en vigueur dans de nombreuses cités, consiste simplement *en dépôts des ordures*. Ces dépôts se font généralement aux abords des villes pour éviter des frais de transport. Ils servent quelquefois, soit de remblais, et permettent ainsi de récupérer des terrains inutilisables (plaine de la Crau), ou bien ils peuvent, dans certaines régions, être utilisés comme engrais sous le nom de gadoues vertes. Ces procédés, naturellement contraires aux lois de l'hygiène, ont fait, de la part de la Conférence européenne d'Hygiène rurale (Genève 1931) ⁽⁷⁾, l'objet de la résolution suivante : « Une règle de sécurité consiste à traiter les ordures ménagères comme si elles étaient infectieuses et à en disposer de telle sorte qu'elles ne puissent polluer ni la surface du sol, ni le sous-sol par percolation (protection de la nappe souterraine), ni les habitations voisines par les mouches (par reproduction de celles-ci), ni même par leurs mauvaises odeurs ».

Cette méthode des dépôts, modifiée, a été rendue compatible avec les règles de l'hygiène sous la forme des « *décharges contrôlées* » qui sont très utilisées en Angleterre et dont les excellents résultats ont « été

(5) Cité d'après ALETRU (J.). — *Th. Doct. Méd.*, Paris, 1929.

(6) MONDON (E.). — *Assainissement général des villes et des petites collectivités*, t. II, 1933, Paris, Dunod, éd.

(7) *Revue d'Hyg. et de Méd. préventive*, 1931, p. 869.

confirmés par ceux qu'a donnés la décharge contrôlée ouverte par le département de la Seine à Liancourt-Saint-Pierre » ⁽⁸⁾. Cette méthode donne toute garantie, à condition d'observer scrupuleusement toutes les précautions prescrites : épaisseur de la couche de dépôt, nivellement de cette couche, homogénéité, couverture de terre, etc.

Dans les villes du littoral, *le jet à la mer* constitue une solution élégante au problème des ordures, à condition que la marée ne ramène pas les détritits à la côte.

On a aussi cherché à traiter ces ordures afin d'en extraire des produits utilisables. Dans certaines villes des Etats-Unis, par exemple, où elles sont riches en lipides, *on les traite par la vapeur et on en extrait les matières grasses* destinées aux savonneries et stéarineries. Mais ce procédé nécessite un triage préalable très poussé et par suite antihygiénique.

En Allemagne, à Leipzig par exemple, la *séparation des déchets de cuisine est faite par la ménagère* elle-même. Ces déchets ainsi récupérés sont ensuite traités en usine et transformés en une poudre dont la valeur alimentaire est des $\frac{4}{5}$ de celle du maïs et destinée à l'alimentation des porcs. C'est un procédé très onéreux et non généralisable.

D'autres essais ont été faits dans le but de *récupérer de l'ammoniaque et des gaz combustibles* tels que l'oxyde de carbone. Les ordures sont, à cet effet, traitées par la chaleur entre 300 et 600°. Mais la composition des gadoues étant très variable, le fonctionne-

(8) PARTRIDGE (M.). — *Ann. Hyg.*, février 1937, pp. 88-97.

ment du gazogène est défectueux (essais à Paris et Versailles). Par le procédé SATHON, on stérilise les gadoues à 150° afin de pouvoir en pratiquer un triage aseptique. On récupère ainsi les différents produits : matières minérales d'une part, et d'autre part, matières organiques utilisables comme engrais. Ce procédé demande une grosse contribution financière de la part de la ville où il fonctionne.

Un procédé très élégant et qui, au point de vue hygiénique, donne toute satisfaction, est l'*incinération des gadoues*. A cet effet, il existe de nombreux types de fours dont on trouvera une description détaillée dans la thèse de J. ALETRU (9) et dans l'ouvrage de E. MONDON (10).

Les différents fours ont tous leurs avantages et leurs inconvénients respectifs. Dans certains systèmes à autocombustion, on utilise la chaleur transformée par la suite en électricité ; dans d'autres systèmes, on récupère les fumées et les gaz pour créer de la force motrice ou des produits chimiques tels que l'ammoniaque.

Mais la valeur calorifique des ordures est particulièrement instable suivant les saisons. Il est difficile d'obtenir des constantes fixes. Enfin, et c'est là le gros inconvénient, on perd toute valeur fertilisante du produit finalement obtenu. Aussi, comme les méthodes d'utilisation agricole des gadoues brutes se sont révélées dangereuses, de nombreux auteurs, et en particulier des auteurs italiens, se sont préoccu-

(9) ALETRU (J.). — *Th. doct. méd.*, 1929, Paris.

(10) MONDON (E.). — *Assainissement général des villes et des petites collectivités*, t. II, 1933, Dunod, éd.

pés de conserver aux ordures leur valeur fertilisante, tout en les rendant inoffensives.

DESTRUCTION DES ORDURES PAR FERMENTATION. — Des expériences du Docteur BECCARI, sur l'amélioration des fumiers dans les exploitations agricoles de Toscane, est née la méthode de destruction des gadoues par fermentation.

Le Docteur BECCARI vit que les fumiers laissés à l'air libre perdaient la plupart de leurs propriétés fertilisantes. Au contraire, entassés dans des cellules closes spéciales, la valeur fertilisante du fumier double tandis que la volatilisation des composés azotés ainsi que les émanations putrides sont supprimées. Pour bien comprendre le mécanisme du procédé, schématisons les transformations qui s'opèrent dans la nature, dans le fumier.

Il existe deux sortes de fermentations :

l'une aérobie : *l'érémacausis* ;

l'autre anaérobie : *la putréfaction*.

Dans la phase aérobie, les matières protéiques subissent une forte oxydation sous l'influence d'actions microbiennes diverses. Le carbone donne de l'acide carbonique, le soufre de l'acide sulfurique, l'hydrogène de l'eau, l'azote de l'ammoniaque. Cette dernière se transforme en nitrites et en nitrates assimilables. Les hydrates de carbone sont rapidement transformés en acide carbonique et eau. La cellulose est plus lentement attaquée et donne de l'anhydride carbonique, de l'hydrogène et du méthane. Les matières grasses sont oxydées, puis saponifiées.

Si l'oxygène est en quantité insuffisante, on assiste

alors au phénomène de putréfaction. La transformation est très ralentie et les produits obtenus sont beaucoup moins intéressants que les précédents pour l'agriculture. Il se forme de l'acide carbonique, de l'hydrogène sulfuré, de l'hydrogène phosphoré, du méthane ; on y trouve de l'indol, du scatol, des acides aminés, de l'ammoniaque, parfois des nitrites et des acides gras volatils.

Le procédé Beccari consiste donc simplement dans la fermentation des gadoues en cellules closes. Ces cellules, appelées *cellules zymothermiques*, présentent la forme de chambres en maçonnerie étanche, d'une capacité d'environ vingt mètres cubes. Le sol du plancher incliné permet l'évacuation des liquides provenant de la fermentation. L'énergie calorifique, mise en jeu par les réactions chimiques qui se passent au sein de la masse, élève rapidement la température. Dès le quatrième ou cinquième jour, la température atteint 50 à 70°. L'opération dure environ 40 jours. Le terreau récupéré est très riche en azote ; mais cette opération est relativement lente, aussi on a cherché à l'activer en aérant davantage la masse ; tel est, par exemple, *le procédé ANGER*, qui diffère en même temps du précédent par la disposition de ses cellules zymothermiques. Mais le gros reproche réside dans le triage préalable des ordures.

A Gênes, on utilise le *système* BIAGGIANO-PICO : la fermentation se fait dans des tours hermétiques où l'on insuffle de l'air comprimé sous sept atmosphères. Le passage de l'air active les fermentations qui ne durent que 35 jours. Les ordures sont introduites

dans les tours sans triage préalable : les animaux morts et les résidus d'abattoirs peuvent même y être traités.

J. BORDAS ⁽¹¹⁾ utilise l'éremacausis et évite la putréfaction grâce à un silo à fonctionnement continu et pour lequel il a obtenu un des *brevets zymos*. Des silos-cellules réalisent un milieu extrêmement favorable à la fermentation par voie oxydante et microbienne (ensemencement par des ferments de l'urée). La teneur en eau de la masse est maintenue à 25 ou 30 % avec une infiltration constante d'air venant de l'extérieur, aussi régulière et parfaite que possible. Une dépression minima dans l'intérieur des cellules est réalisée à l'aide d'un aspirateur électrique faisant partie de l'appareil d'absorption des gaz. Les gaz produits par les ordures en fermentation, et qui ne doivent contenir qu'un peu d'acide carbonique et très peu d'ammoniaque, si l'opération est bien conduite, sont collectés dans des conduites étanches et amenés dans un appareil spécial d'absorption et de fixation contenant en général une solution titrée d'acide sulfurique. Une fois le cycle de fermentation accompli (20 à 25 jours à température d'environ 75 à 82°), on fait tomber par gravité le fumier-terreau produit, au rez-de-chaussée des silos-cellules. Le produit reste ainsi stocké au contact de l'air pendant une période de 20 à 30 jours ; c'est ce qu'on appelle la période de « fermentation tacite » durant laquelle la température de la masse reste toujours voisine de 60°.

(11) BORDAS (J.). — *Ann. Hyg.*, 1931, pp. 238-262.

L'azote de l'urée se trouve intégralement dans le produit final sous forme d'azote ammoniacale ou nitrrique. Le terreau aseptique obtenu a une valeur agricole double de celle du fumier de ferme ordinaire qui, de plus, contient toujours des semences de mauvaises herbes.

De semblables usines fonctionnent à Cannes, Aix-en-Provence, Valence et Avignon et donnent toute satisfaction.

La Société de thermo-fermentation a apporté à ce système une variante : l'addition de jus bactérien est supprimée de même que la première phase de la fermentation à la température ambiante. L'originalité du procédé réside dans l'*insufflation d'air chaud* à travers la masse. Les premiers essais ont été faits à Besançon ⁽¹²⁾. En 48 heures, la température atteint 75° et, à partir de ce moment, l'air chaud n'est plus nécessaire, la température se maintient d'elle-même. En 12 jours, la transformation en terreau est opérée. E. MARÉCHAL ajoute même qu'en intensifiant l'arrivée de l'air chaud, on réduit à 7 jours la durée du travail. Les déchets d'abattoir sont complètement détruits, les os s'effritent, les hydrates de carbone et les graisses sont transformés. Mais les substances cellulosiques (papier, chiffons, bois), n'ont subi aucune altération. « Le terreau obtenu est une substance noire, finement granuleuse, décelant à l'analyse » :

(12) MARÉCHAL (E.). — *Revue Hyg. et Méd. préventive*, 1936, **58**, 721-728.

Azote (sous forme d'azote organique) .	0,6 à 0,8 %
Potasse	0,6 %
Phosphore	0,6 %

Ce phénomène se développerait sous l'influence d'une seule bactérie thermophile que l'auteur a isolée et que nous avons d'ailleurs mise, nous-même, en évidence. Nous en donnerons la description et les propriétés biologiques dans un des chapitres suivants.

CHAPITRE II

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES BACTERIES THERMOPHILES

Nous avons isolé trois bactéries thermophiles que nous étudions ci-après.

§ I. — Matériel d'étude.

Le Docteur MARÉCHAL ayant aimablement mis à notre disposition un peu du terreau provenant de ses derniers essais, nous nous sommes proposé d'isoler la bactérie qu'il a lui-même décrite, afin de préciser son rôle dans la transformation des ordures ménagères.

a. — Isolement.

Une pincée de terreau est délayée dans dix centimètres cubes environ d'eau stérile et portée dix minutes à l'ébullition. L'eau de macération ainsi obtenue estensemencée en eau peptonée et portée à l'étuve réglée à 68°. Nous obtenons en vingt-quatre heures un trouble abondant de l'eau peptonée. Après

six repiquages en eau peptonée, nous ensemençons en boîte de PETRI, sur gélose lactosée tournesolée. Nous obtenons des colonies jaunes, grasses, très épaisses, et des colonies bleues. On prélève une colonie jaune que l'on réensemence en eau peptonée. Nous isolons à nouveau en gélose lactosée tournesolée, nous n'obtenons que des colonies jaunes, donc nous avons affaire à une culture pure d'un bacille que nous appellerons THERMOBACILLE A.

Plus tard, nous avons essayé de l'isoler à nouveau à partir du terreau : nous avons alors mis en évidence deux autres bacilles voisins : LES THERMOBACILLES B ET C et enfin, LA BACTÉRIE DE MARÉCHAL.

Avant d'entrer dans le détail de la morphologie et de la biologie de nos bacilles, nous décrirons rapidement les milieux de culture et les techniques de coloration utilisés.

b. — Milieux de culture.

L'EAU PEPTONÉE, milieu d'élection de nos bactéries thermophiles est préparée d'après la formule suivante :

Eau	1.000 gr.
Peptone	20 gr.
Cl Na	5 gr.

Porter le tout à l'ébullition. Alcaliniser par la soude à pH 7,4. Porter à l'autoclave à 120°, 30 minutes. Filtrer. Vérifier le pH, alcaliniser ou acidifier s'il est nécessaire. Répartir en tubes et stériliser à l'autoclave à 110°, 20 minutes.

Pour l'étude du *pouvoir saccharolytique*, nous avons utilisé les MILIEUX SUCRÉS LIQUIDES ainsi préparés :

Pour 1.000 gr. d'eau, ajouter :

Peptone (Chapoteaut) 30 gr.

Sel marin 10 gr.

Faire dissoudre à feu doux en agitant. Porter à l'ébullition. Alcaliniser légèrement par la soude. Ajouter ensuite 60 cc. environ de teinture de tournesol ⁽¹⁾. Incorporer le sucre à la dose de 2 %. Ainsi préparé, souvent le milieu rougit. Alcaliniser alors avec de la soude jusqu'à obtention d'une belle teinte améthyste. Cette manipulation est particulièrement délicate et nécessite une technique très sûre. Tous les milieux sucrés doivent présenter une coloration uniforme.

Pour les sucres tels que glucose, saccharose, maltose, lactose, mannite, adonite, nous stérilisons à l'autoclave à 105°, 15 minutes. Pour les autres sucres, plus fragiles, afin d'éviter l'altération de la molécule hydrocarbonée, on pèse le sucre aussi aseptiquement que possible, on laisse en contact avec l'éther sulfurique plusieurs heures et on l'ajoute au milieu de culture. Les milieux ainsi obtenus sont stérilisés par filtration sur bougie CHAMBERLAND L₃.

L'action possible des bactéries sur *la cellulose* est étudiée grâce au MILIEU OMELIANSKY à la cellulose :

(1) Teinture de tournesol. Eau distillée 1.000 gr., tournesol en poudre 250 gr. Mettre le tournesol dans une capsule avec l'eau distillée, porter à l'ébullition quelques minutes. Laisser décanter 24 heures. Filtrer. Reprendre le résidu de la capsule par l'eau distillée bouillante. Laisser décanter et filtrer.

Phosphate de potasse	1 gr.
Sulfate de magnésie	0 gr. 50
Sulfate d'ammonium	1 gr.
Chlorure de sodium	traces
Eau distillée	1.000 gr.

Ajouter au milieu ainsi préparé des bandes de papier Berzélius lavé et séché. La stérilisation se fait à l'autoclave à 120°, 20 minutes.

LE MILIEU NITRATÉ⁽¹⁾ permet d'étudier le *pouvoir dénitrifiant* :

Nitrate de potasse pur	1 gr.
Peptone	1 gr.
Eau distillée	100 gr.

Répartir dans des tubes avec cloches à gaz. Les ferments dénitrifiants donnent dans ce milieu une réduction des nitrates avec dégagement d'azote.

LE MILIEU A LA CYSTÉINE⁽²⁾ sert à rechercher les traces possibles de sulfures libérés par les bactéries :

Cystéine	40 mg.
Glucose	500 mg.
Chlorure de sodium	0 gr. 9
Eau	100 cc.

LE MILIEU DE A. BERTHELOT⁽³⁾ permet d'étudier le *pouvoir acidaminolytique* des bactéries; voici quelle en est sa formule :

(1) GRIMBERT (L.). — *Th. Doct. Sciences*, Paris, 1903.

(2) FROMAGEOT (Cl.). — *Enzymologia*, vol. II, fasc. 2, 1937.

(3) CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — *Manuel technique de microbiologie et sérologie*. Masson et Cie, éd., 1933.

Eau de source	1.000 cc.
Phosphate dipotassique . .	1 gr. 50
Sulfate de magnésie .	0 gr. 75
Acide aminé	1 à 2 gr.

Chauffer 5 minutes à 120°. Filtrer au papier. Stériliser 20 minutes à l'autoclave à 115°. Les acides aminés employés sont l'alanine et le tryptophane à la concentration de 1 0/00, la tyrosine et le chlorhydrate d'histidine à la concentration de 2 0/00.

On conclut à un pouvoir acidaminolytique lorsqu'on obtient un bon développement dans ces milieux, même après plusieurs repiquages.

Pour l'étude du pouvoir lipolytique, nous n'avons pu utiliser les méthodes ordinaires à cause de la température élevée à laquelle nous soumettons nos cultures. Aussi, nous employons le MILIEU DE RAHN (4) :

Phosphate dipotassique	0,5 %
Phosphate d'ammonium. . .	0,5 %
Sulfate de magnésie	0,1 %
Chlorure de calcium	0,1 %
Sulfate de fer	traces
Chlorure de sodium	traces

Neutraliser à l'aide de soude en présence de tournesol. Au milieu synthétique précédent ajouter 1,5 % de gélose et la matière grasse. Agiter vigoureusement la masse fondue. Décanter la partie supérieure trop riche en matière grasse. Couler en boîtes ou en tubes le reste du milieu dans lequel la matière grasse est finement émulsionnée.

(4) WEINBERG (M.), NATIVELLE (R.) et PRÉVOT. — Les microbes anaérobies. Masson et Cie, éd., 1937.

Pour l'étude du *pouvoir protéolytique*, nous n'avons pu employer la gélatine qui est naturellement liquéfiée à 68°. Nous utilisons le SÉRUM COAGULÉ et le CUBE DE BLANC D'ŒUF.

Pour compléter notre travail, nous avons aussi cultivé nos bactéries en bouillon ordinaire, en bouillon T, en milieu bilié et en bile. Nous les avons observées aussi sur gélose ordinaire, en milieu SABOURAUD et en milieu GUITTONNEAU⁽⁵⁾. Ce dernier milieu a été composé par l'auteur lui-même pour l'étude du THERMOBACILLUS TARBELLICUS isolé des boues de DAX. Voici sa composition :

Biphosphate de potasse	1 gr.
Sulfate de magnésie	0 gr. 2
Sulfate ferreux	0 gr. 01
Chlorure de zinc	0 gr. 005
Chlorure de manganèse	0 gr. 005
Sulfate d'ammonium	2 gr.
Peptone Defresne	15 gr.
Saccharose	40 gr.
Eau du robinet	1.000 cc.

On neutralise par la soude en présence de phénol-phtaléine et on additionne d'un excès de carbonate de chaux.

c. — Méthodes de coloration.

Pour l'examen microscopique, nous avons usé du ZIELH et du GRAM. Pour le Gram, nous employons la

(5) GUITTONNEAU (G.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1928, **187**, 69-72 ; **190**, 82.

technique utilisée à la Faculté de NANCY⁽⁶⁾. Nous disposons de quatre séries de tubes BORREL : une pour le violet de gentiane, une pour la solution de Lugol, une pour l'alcool-acétone, une pour le Zielh dilué.

Les préparations passent deux minutes dans le violet puis, après avoir été grossièrement séchées au papier buvard, deux minutes dans le Lugol. Elles sont séchées à nouveau, puis elles sont plongées cinq minutes dans l'alcool-acétone. Après avoir été lavées, à l'eau, quelques secondes, elles sont plongées dix secondes dans le Zielh dilué, puis abondamment lavées.

LA MÉTHODE DE MÖLLER nous a donné toute satisfaction pour les colorations de spores :

Réactifs utilisés :

Alcool absolu,

Chloroforme,

Acide chromique à 5 %.

Zielh,

Acide sulfurique,

Solution à 1 % de bleu de méthylène.

Fixer deux minutes par l'alcool absolu puis deux minutes par le chloroforme. Sans laver, on fait agir, sur la préparation, la solution d'acide chromique trois à cinq minutes. On colore par le Zielh à chaud, cinq minutes (à froid cinq heures). On décolore par l'acide sulfurique cinq secondes, puis par l'alcool absolu. On lave, on recolore trente secondes par la

(6) COUDRAY (G.). — *Th. Doct. Pharm.*, 1929, Nancy.

solution de bleu de méthylène : les spores apparaissent colorées en rouge, les bacilles en bleu.

§ II. — Etude morphologique et biologique des bactéries thermophiles isolées.

Pour l'étude systématique de nos bactéries, nous nous sommes inspirée, d'une part, du tableau de A. BERTHELOT ⁽⁷⁾ et, d'autre part, de la thèse de L. GRIMBERT ⁽⁸⁾. Nous verrons donc successivement la morphologie des bactéries, leurs caractères de culture, leurs caractères biochimiques et leur pouvoir pathogène.

Thermobactérie A.

La THERMOBACTÉRIE A a été isolée comme nous l'avons indiqué précédemment.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Ses caractères morphologiques ont été étudiés sur des cultures de vingt-quatre heures en eau peptonée à la température de 68°.

C'est un bacille thermophile strict : il ne pousse pas à 37°. Il est immobile.

Il ne se colore pas par la méthode de Gram, mais

(7) CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson et Cie, éd., 1933.

(8) GRIMBERT (L.). — *Thèse doct. Sc.*, 1903, Paris.

présente trois ou quatre granulations à Gram positif par élément. Nous avons laissé vieillir nos cultures soit à l'étuve, soit à la température du laboratoire afin de voir si le corps bactérien se lyse en abandonnant ses granulations : il n'en est rien, les granulations disparaissent avec le bacille.

Il ne se colore pas par la méthode de Zielh.

Il ne présente pas de spores : au moins après cinq ou six repiquages en eau peptonée, moment à partir duquel nous avons fait nos préparations. Ceci paraît paradoxal, puisque ces bacilles ont résisté dix minutes à l'ébullition. Il est possible qu'en milieu synthétique les bactéries végètent différemment que dans leur milieu d'élection perdant ainsi la propriété de sporuler.

Ces bactéries sont surtout aérobies, mais, cependant, en anaérobie, elles donnent des cultures grêles.

Une culture de 24 heures en eau peptonée est stérilisée par chauffage; en une minute au bain-marie bouillant.

Sa vitalité est de 15 jours à la température du laboratoire.

CARACTÈRES DES CULTURES DANS LES MILIEUX USUELS.

— En eau peptonée : la thermobactérie A donne en 24 heures un trouble homogène avec une très mince pellicule à la surface du liquide. En 48 heures : on observe un dépôt floconneux, tandis que le pH passe de 7,6 à 8,4.

En quatre jours, à la température du laboratoire, on obtient une culture claire avec un dépôt floconneux.

En bouillon ordinaire, en bouillon T et en milieu GUITTONNEAU, on note un trouble homogène.

Elle ne se cultive ni en gélose Veillon, ni en bile, ni en milieu bilié. Elle ne fait pas virer le milieu au rouge neutre.

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES.

Action sur les matières azotées. — En eau peptonée : la recherche de l'indol par la réaction de Sal-kowsky ; de même que la recherche de l'hydrogène sulfuré (alcalinisation par la soude puis addition de quelques gouttes d'une solution de nitroprussiate de soude à 1 %) sont négatives.

La présence très nette d'ammoniaque est décelée par le réactif de NESSLER.

En milieu nitraté, il y a réduction des nitrates et dégagement d'azote.

Le lait n'est pas coagulé.

En milieu à la cystéine il n'y a pas de dégagement d'hydrogène sulfuré : donc la cystéine n'est pas attaquée.

Etude du pouvoir protéolytique. — En sérum coagulé, on observe en 24 heures des traînées grasses jaunâtres sans liquéfaction, même après plusieurs jours. Les cubes de blanc d'œuf ne sont pas attaqués.

Etude du pouvoir acidaminolytique. — On utilise les milieux de A. Berthelot précédemment décrits : milieux à l'alanine, au tryptophane, à la tyrosine. Les cultures sont très légèrement positives en 48 heures.

Actions fermentescibles sur les sucres. — Le tableau suivant met en évidence ces différentes actions :

THERMOBACTÉRIE A

Hydrates de Carbone				Glucosides			
	24 heures	48 heures	3 jours		24 heures	48 heures	3 jours
C ⁵	Arabinose	±	+ j	}	Salicine	+	+
	d-xylose	+	+		Arbutine.....	+ j	+ j
					Aloïne	—	—
C ⁶	Glucose	—	+	Polyalcools			
	Levulose.....	+	+	C ⁴	Erythrite	+ jr	+ jr
	Galactose.....	±	+	C ⁵	Adonite	+ r	
C ¹²	Saccharose....	—	+	C ⁶	Mannite.....	+ jr	+
	Maltose	+	+		Sorbité	±	—
	Lactose	+ j	+ j		Inosite	±	—
Cn				C ¹²	Lactosite	—	—
	Amidon	—	+ j				
	Glycogène	+ j	+ j				
	Dextrine	+ j	+ j				
	Inuline	+	+				

D'après ce tableau, nous voyons que tous les hydrates de carbone sont fermentés. Parmi les polyalcools, seuls sorbite, inosite et lactosite ne sont pas attaqués. La THERMOBACTÉRIE A attaque même les glucosides tels que la salicine et l'arbutine. Nous avons noté un phénomène curieux qu'il nous semble intéressant de signaler. Certains milieu sucrés virent au jaune sous l'influence de nos bactéries. La THERMOBACTÉRIE A, par exemple, donne des colonies jaunes sur gélose lactosée tournesolée. Si nous plaçons alors les boîtes

de Petri, soit à la lumière, soit à l'obscurité, mais à la température du laboratoire, nous constatons que les colonies reprennent la teinte du milieu, soit la teinte bleue. Si l'on reporte à nouveau les boîtes à l'étuve à 68°, la teinte jaune réapparaît. Dans certains milieux sucrés liquides, le même phénomène se reproduit : le milieu devient jaune, une simple agitation à l'air suffit pour ramener la teinte bleue primitive, si le sucre n'est pas attaqué ou la teinte rouge, s'il l'est (+j de notre tableau). On pourrait peut-être expliquer ce phénomène soit par le fait que les bactéries étant forcément aérobies, réduisent le tournesol, soit par la présence d'une flavine. Cette dernière hypothèse serait particulièrement séduisante car elle expliquerait le rôle très actif de ces bactéries : les flavines étant de puissants catalyseurs d'oxydation. Nous n'avons pas poussé plus loin nos recherches mais il nous semble intéressant d'attirer l'attention sur ce phénomène.

La THERMOBACTÉRIE A n'attaque pas la cellulose en milieu OMELIANSKY.

Action sur les graisses. — On n'observe aucun virage en milieu de RAHN.

POUVOIR PATHOGÈNE. — 2 cm³ de culture de 24 heures en eau peptonée inoculée au cobaye par voie hypodermique de même que 1 cm³ inoculé au lapin par voie intraveineuse, n'ont provoqué ni abcès local, ni atteinte de l'état général de ces animaux.

En résumé, la THERMOBACTÉRIE A est une bactérie thermophile stricte, aérobie, à Gram négatif mais à granulations à Gram positif. Nous n'avons pas mis de

spores en évidence. La bactérie est dénitrifiante et n'a aucune action sur les graisses et les matières protéiques et la cellulose. Par contre, elle présente une activité considérable sur les hydrates de carbone.

Thermobactérie B.

Tandis que nous poursuivions notre étude de la THERMOBACTÉRIE A, nous avons essayé d'isoler à nouveau cette bactérie à partir du terreau, mais au lieu de la THERMOBACTÉRIE A, nous avons isolé une bactérie voisine que nous appellerons THERMOBACTÉRIE B.

Pour l'isolement, nous avons utilisé la technique employée pour la THERMOBACTÉRIE A, mais l'ébullition a été de 15 minutes au lieu de 10 minutes. Les colonies sur gélose lactosée tournesolée sont minces, arrondies, violacées, à bords finement dentelés et en trois jours, la plaque de gélose lactosée tournesolée vire au rouge.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — C'est un bacille thermophile strict. Il ne se développe pas à 37°, il cultive à 68°. C'est un bacille immobile, plus grêle que le bacille A, il ne se colore pas par la méthode de Gram mais présente comme le THERMOBACILLE A, des granulations qui conservent le Gram. Il n'offre pas de spores. Il n'est pas acido-résistant. Il est surtout aérobic. Il est détruit par chauffage d'une minute au bain-marie bouillant (culture de 24 heures en eau peptonée). Il vit treize jours à la température du laboratoire.

CARACTÈRES DES CULTURES EN MILIEUX USUELS. —

En eau peptonée, le bacille B donne en 24 heures un trouble homogène et par agitation on observe le phénomène des ondes moirées. Le pH passe de 7,6 à 8,2.

En bouillon ordinaire, bouillon T et milieu GUITTONNEAU, il donne un trouble homogène.

Sur gélose ordinaire, on n'observe une légère traînée blanchâtre qu'au bout de trois jours.

Il ne se cultive pas sur bile; mais en milieu bilié, il donne en 48 heures une culture avec dépôt floconneux.

Il ne fait pas virer le milieu au rouge neutre.

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES.

Action sur les matières azotées. — En eau peptonée, il ne donne ni indol ni hydrogène sulfuré.

En milieu nitraté, il ne donne pas de dégagement d'azote et dans le milieu on ne décèle pas de nitrites.

Le lait est coagulé en 24 heures, puis le coagulum se redissout.

Etude du pouvoir protéolytique. — Le bacille B, sur sérum coagulé, donne de rares colonies blanches nacrées, sans liquéfaction. Le cube de blanc d'œuf n'est pas attaqué.

Etude du pouvoir acidaminolytique. — Il ne cultive pas sur les milieux à l'alanine, au tryptophane et à l'histidine.

La culture sur milieu à la cystéine est positive, mais on n'y décèle pas de traces de sulfures.

Action fermentescible sur les sucres (voir tableau p. suivante) :

THERMOBACTÉRIE B

Hydrates de Carbone		24 heures	48 heures	3 jours	Glucosides		24 heures	48 heures	3 jours
C ⁵	Arabinose	±	±	+	{	Salicine	—	—	—
	d-xylose	+	+	+		Arbutine	—	—	—
C ⁶	Glucose	—	+	+		Aloïne	—	—	—
	Levulose.....	+	+	+	Polyalcools				
	Galactose.....	+	+	+	C ⁴	Erythrite	—	—	—
C ¹²	Saccharose....	+	+	+	C ⁵	Adonite	—	—	—
	Maltose	+	+	+	C ⁶	Mannite	+	+	+
	Lactose	—	+	+		Sorbite	—	—	—
C ^a	Amidon.....	—	—	—		Inosite	—	—	—
	Glycogène	+	+	+	C ¹²	Lactosite	—	—	—
	Dextrine	+	+	+					
	Inuline	±	±	±					

La bactérie B fait donc fermenter presque tous les hydrates de carbone sauf l'amidon et l'inuline. Cependant, elle n'attaque pas les glucosides ni les polyalcools sauf la mannite.

La cellulose n'est pas touchée.

Action sur les graisses. — Elle n'a pas d'action saponifiante sur les graisses.

POUVOIR PATHOGÈNE. — 4 cm³ de culture de 24 heures en eau peptonée inoculée au cobaye par voie hypodermique, de même que 1 cm³ inoculée au lapin par voie intraveineuse, n'ont provoqué ni abcès, ni atteinte de l'état général de ces animaux.

En résumé : la thermobactérie B est une bactérie thermophile stricte, plutôt aérobie, non sporulée, à Gram négatif, mais à granulations à Gram positif. Elle n'est ni dénitrifiante, ni protéolytique, ni lipolytique. Elle attaque presque tous les hydrates de carbone mais elle n'hydrolyse pas l'amidon ni les glucosides. Son action biochimique est donc moins importante que celle de la bactérie A.

Thermobactérie C.

ISOLEMENT. — Le terreau humecté est porté dix minutes à l'ébullition et nous ensemençons en bouillon T. Nous notons un trouble homogène et une légère pellicule à la surface du liquide en 24 heures. Nous pratiquons l'isolement sur gélose lactosée tournesolée. Nous obtenons uniquement des colonies bleues : les unes sont étoilées, les autres sont arrondies. Nous repiquons en eau peptonée, respectivement une colonie étoilée et une colonie ronde et nous ensemençons à nouveau en gélose lactosée tournesolée ; nous constatons que la colonie étoilée dont nous sommes partie a donné naissance à des colonies rondes et vice-versa. Nous concluons au polymorphisme de notre culture.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — C'est un bacille thermophile strict. Il ne se développe pas à 37°. Il cultive très bien à 68°. Contrairement aux THERMOBACILLES A et B, il est mobile. Comme A et B il ne prend pas la coloration de Gram mais présente des

granulations à Gram positif. Il n'est pas acido-résistant. Il n'est pas sporulé. Il est détruit par chauffage d'une minute au bain-marie à 100° (culture de 24 heures en eau peptonée). Il vit vingt-six jours à la température du laboratoire.

CARACTÈRES DES CULTURES DANS LES MILIEUX USUELS.

— En bouillon ordinaire, il donne un trouble en 24 heures. En eau peptonée, on observe en 24 heures un trouble homogène avec une pellicule très mince à la surface. En 48 heures, on note un trouble avec dépôt floconneux. Le pH passe de 7,6 à 8,4.

En bouillon T et en milieu GUITTONNEAU, il donne un trouble homogène.

Sur gélose ordinaire, il donne de petites colonies blanchâtres.

Sur bile, on observe en 24 heures un trouble homogène qui disparaît en trois jours. En milieu bilié, la culture est positive en 24 heures.

Il ne fait pas virer le milieu rouge neutre.

CARACTÈRES BIOCHIMIQUES.

Action sur les matières azotées. — En eau peptonée, on ne décèle ni indol, ni hydrogène sulfuré. En milieu nitraté, il ne produit pas de dégagement d'azote mais réduit les nitrates en nitrites. Il ne coagule pas le lait.

Pouvoir protéolytique. — Sur sérum coagulé on observe en 24 heures des petites traînées grasses jaunâtres, sans liquéfaction du milieu. Le cube de blanc d'œuf n'est pas attaqué.

Pouvoir acidaminolytique. — Il ne cultive pas sur les milieux à l'alanine, au tryptophane et à l'histidine. La culture sur milieu à la cystéine est positive mais on n'y décèle pas de traces de sulfures.

Action sur les hydrates de carbone (voir tableau).

THERMOBACTÉRIE C

Hydrates de Carbone	24	48	3	Glucosides	24	48	3
	heures	heures	jours		heures	heures	jours
C ⁵ { Arabinose	+ j	+	+	{ Salicine	±	±	±
d-xylose	+ jr	+	+		±	—	—
					—	—	—
C ⁶ { Glucose	—	+	+	Polyalcools			
Levulose.....	+ j	+ j	+	C ⁴ Erythrite	+ j	+	+
Galactose.....	+ j	+	+	C ⁵ Adonite	+ j		
C ¹² { Saccharose....	+ j	±	+	C ⁶ { Mannite.....	+ j	+	+
Maltose	+ j	+	+		+ j	+	+
Lactose	—	+	—		+ j	+	+
				C ¹² Lactosite	+ j	+ j	
Cn { Amidon	+ j	—	—				
Glycogène	+ j	+ j	+ j				
Dextrine	+ j	+ j	+ j				
Inuline	+ j	—	—				

Le bacille C fait donc fermenter tous les hydrates de carbone, mais il n'attaque pas la cellulose en milieu Oméliansky.

Action sur les graisses. — Le bacille C n'a aucun pouvoir lipolytique.

POUVOIR PATHOGÈNE. — 2 cm³ de culture de 24 heures en eau peptonée inoculée par voie sous-cutanée

au cobaye et 1 cm³ de cette même culture inoculée par voie intraveineuse au lapin, ne provoquent aucune réaction chez ces animaux au bout de 40 jours.

En résumé, le thermobacille C est un bacille thermophile mobile non sporulé à Gram négatif mais à granulations qui gardent le Gram. C'est une bactérie dénitrifiante indirecte. Elle n'est ni protéolytique, ni lipolytique, mais elle est particulièrement saccharolytique : elle attaque, en effet, tous les hydrates de carbone et les polyalcools, mais hydrolyse plus difficilement les glucosides.

Dans le tableau suivant, nous résumons les caractères des thermobactéries A, B et C.

Désignation	THERMOBACTÉRIE A	THERMOBACTÉRIE B	THERMOBACTÉRIE
Origine	Terreau de Thermofermentation de Besançon (Docteur MARÉCHAL)		
	THERMOBACTÉRIE A	THERMOBACTÉRIE B	THERMOBACTÉRIE
Forme et disposition des éléments	Bacilles isolés.	Bacilles isolés.	Bacilles isolés.
Motilité	Immobile.	Immobile.	Mobile.
Caractères de coloration :			
Gram	— Avec granulations +.	— avec granulations +.	— avec granulations +.
Acido-résistance . . .	—	—	—
Caractères des cultures à 37°	—	—	—
<i>Caractères des cultures à 68° (24 heures)</i>			
Bouillon ordinaire .	Trouble.	Trouble.	Trouble.
Lait	Pas coagulé.	Coagulé puis redissout.	Pas coagulé.
Gélose ordinaire . .	Petites colonies blanchâtres.	24 h. — ; 3 jours : trainées blanches.	Colonies blanchâtres.
Gélose Veillon	—	—	—
Sérum coagulé	Trainées grasses jaunâtres.	Rares colonies blanches nacrées.	Trainées grasses jaunâtres.
Pomme de terre . . .	Sont desséchées,	à 68°.	
Bouillon T	Trouble.	Trouble.	Trouble.
Eau peptonée	Trouble homogène avec pellicule à la surface ; en 48 h. : dépôt floconneux. Le pH passe de 7,5 à 8,4.	En 24 h., léger trouble homogène donne le phénomène de l'onde moirée ; pH passe de 7,6 à 8,2.	Gros trouble homogène.
Milieu Guittonneau.	+	+	+
Milieu Sabouraud .	Colonies arrondies blanchâtres.	—	—
Milieu au rouge neutre	Ne vire pas.	Ne vire pas.	Ne vire pas.
Gélose au plomb . .	—	—	—
Gélose lactosée tournesolée	Colonies grasses arrondies, saillantes jaune vif.	Petites colonies bleues très maigres.	Colonies bleues grasses et épaisses.

	Thermobactérie A.	Thermobactérie B.	Thermobactérie C.
<i>Produits formés aux dépens de :</i>			
<i>L'eau peptonée :</i>			
indol	—	—	—
H ² S	—	—	—
NH ³	+	+	+
Milieu à la cystéine	+ mais pas d'H ² S.	+ mais pas d'H ² S.	+ mais pas d'H ² S.
Milieu nitraté . . .	Dégagement d'N.	Pas de dégagement d'N.	Pas de dégagement d'N.
<i>Pouvoir protéolytique :</i>			Présence de nitrites.
Gélatine			
Sérum coagulé . . .	Traînées grasses jaunâtres, pas de liquéfaction.	Rares colonies blanches nacrées.	Traînées grasses jaunâtres.
Blanc d'œuf coagulé	—	—	—
<i>Pouvoir acidaminolytique :</i>			
4 ^e passage. Culture de 24 heures :			
Alanine	Très légèrement positif au bout de 48 heures. On fait une 2 ^e repiquage qui est négatif au bout de 48 heures.	—	—
Tyrosine		—	—
Tryptophane		—	—
<i>Cultivation sur les graisses :</i>			
Milieu de Rahn . . .	—	—	—
Cholestérine	—	—	+ j. r.
Milieu bilié	—	— en 24 h., mais + en 48 h. avec gros dépôt.	+ avec gros dépôt.
Bile	— le 6 ^e jour.	—	+ en 24 h., devient limpide en 3 jours.
Anaérobie	+(mais pousse moins abondamment qu'en aérobie).	Léger trouble homogène.	Trouble homogène.

	A	B	C
	24 h.	48 h.	3 jours
Hydrates de Carbone			
C ⁵ { Arabinose ...	±	+ j.	+ j
{ d xylose	+	+	+
C ⁶ { Glucose	-	+	+
{ Levulose ...	+	+	+
{ Galactose ...	±	+	+
C ¹² { Saccharose ..	-	+	+
{ Maltose	+	+	+
{ Lactose	+ j	+ j	+ j
Cn { Amidon	-	+	-
{ Glycogène...	+ j	+ j	+ j
{ Dextrine	+ j	+ j	+ j
{ Inuline	+	+	+
Glucosides			
{ Salicine	+	+	+
{ Arbutine	+ j	+ j	+ j
{ Aloïne	-	-	-
Polyalcools			
C ⁴ Erythrite	+ jr	+ jr	+jr
C ⁵ Adonite	+r	-	-
C ⁶ Mannite	+ jr	+	+
Sorbité	±	-	-
Inosite	±	-	-
C ¹² Lactosité ...	-	-	-
Cellulose	-	-	-

§ III. — Caractères communs et caractères différentiels des bactéries thermophiles A, B, C.

Les THERMOBACTÉRIES A et B sont immobiles tandis que la THERMOBACTÉRIE C est mobile. La vitalité de C est de beaucoup la plus longue puisqu'elle est de 26 jours, celle de A de 15 jours, et celle de B de 13 jours.

Elles ne prennent pas la coloration de Gram mais présentent toutes trois des granulations à Gram positif. DUNEZ⁽⁹⁾ signale des granulations identiques dans des bactéries thermophiles cellulolytiques qu'il a isolées du fumier artificiel.

A, B et C n'ont aucune action protéolytique, acidaminolytique ni lipolytique. Elles sont particulièrement saccharolytiques.

Elles sont aérobies mais cependant cultivent légèrement en anaérobie.

La THERMOBACTÉRIE A est nettement dénitrifiante, la THERMOBACTÉRIE C réduit les nitrates en nitrites, la THERMOBACTÉRIE B n'a aucune action sur eux mais, par contre, coagule le lait. La THERMOBACTÉRIE C végète particulièrement bien en bile et en milieu bilié.

Elles sont toutes trois sans action sur la cellulose.

Nous pouvons donc dire que nous avons à faire à trois bactéries thermophiles très voisines qui, en milieux artificiels, tout au moins, sont surtout saccha-

(9) DUNEZ (A.). — *Ann. Agro.*, 1933.

rolytiques. Elles sont nettement différentes de la bactérie de MARÉCHAL qui est sporulée et donne de l'indol et de l'hydrogène sulfuré. Ceci nous permet de supposer qu'il existe dans le terreau de nombreuses bactéries thermophiles.

CHAPITRE III

LA BACTERIE DE MARECHAL ET LES BACTERIES THERMOPHILES DEJA ECRITES

Poursuivant nos recherches, nous avons enfin isolé la bactérie de MARÉCHAL.

§ I. — Bactérie de Maréchal ⁽¹⁾.

Le terreau délayé dans l'eau stérile est porté 15 minutes au bain-marie bouillant et on ensemence en eau peptonée, à 37° et à 68°. A 37°, on met en évidence du *Bacillus subtilis*. A 68°, après isolement en gélose lactosée tournesolée où l'on obtient des colonies roses, on repique en eau peptonée. La réaction de l'indol est positive de même que la recherche de l'hydrogène sulfuré. Il est à noter qu'après plusieurs repiquages en eau peptonée, l'indol de même que l'hydrogène sulfuré disparaissent. Lactose, glucose, maltose, mannite sont fermentés. La bactérie ne noir-

(1) MARÉCHAL (E.). — *Rev. d'Hyg. et Méd. préventive*, 1936, **58**, 721-728.

cit pas la gélose au plomb et ne pousse pas en gélose VEILLON. Elle coagule le lait en 24 heures, elle végète légèrement en anaérobie et en milieu bilié. Elle n'a aucun pouvoir protéolytique. Elle est à Gram positif et est sporulée.

§ II. — Les bactéries thermophiles déjà écrites.

Ni la bactérie isolée par le Docteur MARÉCHAL, ni celles que nous avons isolées nous-même ne sont capables à elles seules d'assurer la transformation des ordures ménagères en terreau. Ni les unes ni les autres n'attaquent, en milieu artificiel, les matières protéiques : comment expliquer alors que celles-ci se transforment ? Nous pouvons donc nous permettre de penser qu'à côté de la bactérie de MARÉCHAL et des nôtres, il existe plusieurs bactéries thermophiles, chacune spécialisée dans l'attaque d'un groupe de substances. Nous n'avons pas isolé ces bactéries car notre méthode d'isolement était trop exclusive, nous cherchions, en effet, à identifier la bactérie de MARÉCHAL avec celles que nous isolions.

Or, si nous parcourons rapidement les travaux faits sur les bactéries thermophiles, nous constatons, d'une part, que ces bactéries ont été bien incomplètement décrites et que, d'autre part, elles sont très nombreuses et qu'il est bien difficile de les identifier les unes aux autres. Cependant, nous voyons qu'au point de vue biochimique, il en existe de toutes catégories. A côté des saccharolytiques, comme celles que nous

avons décrites, il en existe de cellulosolytiques, de protéolytiques et de saponifiantes.

MIQUEL⁽²⁾ fut le premier qui isola des eaux de la Seine, en 1879, une bactérie capable de se développer à 72°. GLOBIG⁽³⁾, MACFAYDEN et BLAXALL⁽⁴⁾ et de nombreux autres auteurs : RABINOWITSCH, SCHILLINGER, TSIKLINSKI, SAMES; BLAU, KROHN, FEIRER⁽⁵⁾ ont montré que le sol renferme de nombreuses bactéries capables de se développer de 50 à 70°, mais qui refusent de se développer à la température du laboratoire. SCHLOESING démontra, en 1892, que la fermentation et du foin et du fumier est causée par des microorganismes appelés bactéries thermogénétiques.

Parmi les bactéries thermophiles protéolytiques, nous pouvons citer les bactéries que BARDOU⁽⁶⁾ a isolées des eaux d'égout de la Madeleine : ces bactéries sont anaérobies ; elles négligent les hydrates de carbone, mais elles jouent un grand rôle dans la désintégration des albuminoïdes. C. DUPONT, dans les fermentations du fumier, isole, à côté du *MESENTERICUS RUBER* qui brûle facilement les sucres et l'amidon et attaque violemment les albuminoïdes, le *BACILLUS THERMOPHILUS GRIGNONI* qui n'attaque ni la cellulose, ni l'amidon, mais dont l'élément préféré est la matière azotée. DE KRUYFF⁽⁷⁾ isola du sol dix espèces

(2) MIQUEL (P.). — *Ann. Microg.*, 1888, **1**, 4-10.

(3) GLOBIG. — *Ztschr. Hyg.*, 1888, **3**, 294-321.

(4) MACFAYDEN et BLAXALL. — *Journ. Path. Bact.*, 1894, **3**, 87-99.

(2) à (5) Cités d'après WAKSMAN S. A., *Principles of soil Microbiology*, 1931, London.

(6) BARDOU (P.). — *Th. Ph. supér.*, 1906, Lille.

(7) DE KRUYFF. — *Centralb. Bakt.*, II, **26**, 65-74, 1910.

de bactéries thermophiles : plusieurs d'entre elles donnent des enzymes protéolytiques.

COOLHAS⁽⁸⁾ isola du sol et du fumier deux bactéries thermophiles capables de décomposer l'amidon : le *BACILLUS AMYLOLYTICUS* qui produit à 55° une grande quantité de maltose, très peu d'acide et pas de gaz et un anaérobie facultatif : *B. THERMOBUTYRICUS* qui produit du gaz carbonique et de l'hydrogène et donne des acides organiques, en particulier de l'acide butyrique.

Certaines bactéries de MACFAYDEN, SCHILLINGER, SAMES, saccharifient l'amidon. Le bacille thermophile de LAXA acidifie les milieux sucrés contenant glucose, fructose, lactose, galactose, amidon, dextrine, raffinose, en produisant de l'oxyde de carbone et de l'acide lactique⁽⁹⁾.

Certaines bactéries décomposent les acides gras avec formation de méthane et d'acide carbonique. Mais les bactéries thermophiles les mieux étudiées sont les bactéries cellulositiques : Nous citons, d'après la thèse d'Y. KHOUVINE⁽¹⁰⁾, les différents auteurs qui se sont occupés de la question : ce sont MACFAYDEN et BLAXALL, puis PRINGSHEIM, LYMN et LANGWELL : les bactéries de ces derniers auteurs décomposaient la cellulose en gaz carbonique, méthane, hydrogène, alcool éthylique et acide acétique. Le *CLOSTRIDIUM THERMOCELLUM* de VILJOEN, FRED et PETERSON fer-

(8) COOLHAS. — *Centralb. Bakt.*, II, **75**, 161-170 ; 344-360 ; 1928 ; **76**, 38-44, 1928.

(9) NÈGRE (L.). — *Bull. Inst. Pasteur*, 1912, **10**, 385-395, 433-444.

(10) KHOUVINE (Y.). — *Th. Paris*, 1934.

mente la cellulose : la spore de ce microbe résiste après 37 minutes de chauffage à 115°.

WOODMANN et STEWART isolent un anaérobie facultatif cellulosolytique. COOLHAS, enfin, décrit un b. thermophile aérobie : le *B. THERMO-CELLOLYTICUS*, c'est un bâtonnet qui se colore par la méthode de Gram, porte une grosse spore excentrique et décompose la cellulose en la colorant et en donnant de l'anhydride carbonique et de l'hydrogène.

LANGWELL et HIND ont isolé du fumier de cheval un microbe thermophile sporulé transformant rapidement à 72°, la cellulose et les autres hydrates de carbone⁽¹¹⁾. Enfin, DUNEZ⁽¹²⁾ a trouvé à la surface des pailles, quatre bactéries thermophiles susceptibles d'amener les transformations biologiques qui s'observent au tas de fumier et de produire, par l'oxydation de la cellulose, des matières humiques. A côté de ces espèces, des quantités d'autres bactéries thermophiles ayant des propriétés biochimiques variables ont été isolées ; GUITTONNEAU⁽¹³⁾, par exemple, isole, des boues de DAX, son thermobacillus *TARBELLICUS* qui fonctionne comme ferment lactique.

L. NÈGRE⁽¹⁴⁾ a lui-même isolé des Sables du Sahara, de nombreuses espèces thermophiles.

Les espèces thermophiles ont été trouvées un peu partout, les premières ont été isolées des sources thermales. « On les rencontre répandues surtout dans les couches supérieures du sol, aussi bien dans l'hé-

(11) BORDAS (F.) et BORDAS (J.). — *Ann. Hyg.*, 1936, 360-363.

(12) DUNEZ. — *Ann. Agro.*, 1933.

(13) GUITTONNEAU (G.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1928, **187**, 69-72.

(14) NÈGRE (L.). — *Th. Doct. Sc.*, 1918, Paris.

misphère boréal que dans l'hémisphère austral (GLOBIG, MACFAYDEN et BLAXALL, SAMES, GILBERT), dans les eaux courantes et stagnantes (MACFAYDEN et BLAXALL, MICHAELIS, CATTERINA), dans les eaux d'égouts (BARDOU), dans l'eau de mer (MACFAYDEN et BLAXALL), dans les poussières (MACFAYDEN et BLAXALL), dans les céréales et l'orge germée (Lydia RABINOWITSCH), dans le fumier (MACFAYDEN et BLAXALL, DUPONT), dans le lait (Lydia RABINOWITSCH, GORINI, SAMES), dans du fromage de Roquefort (OPRESCU), dans le mucus vaginal d'une femme (SAMES), dans les excréments d'un grand nombre de vertébrés (MACFAYDEN et BLAXALL, Lydia RABINOWITSCH), dans la bouche, l'estomac, l'intestin grêle, le gros intestin des mammifères, des oiseaux, des reptiles et des poissons (Lydia RABINOWITSCH), dans l'intestin et les excréments de l'homme (Mlle TSIKLINSKI, MEREJKOVSKI, BRUINI, ANISCHKOW). Les microbes thermophiles se rencontrent donc partout » ⁽¹⁵⁾.

(15) NÈGRE (L.). — *Th. Doct. Sc.*, 1918, Paris.

CHAPITRE IV

LA FLORE BACTERIENNE DES CELLULES ZYMOTHERMIQUES

Nous savons que nous ne pouvons pas induire des phénomènes microbiens de nos cultures pures aux activités microbiennes de la nature. Dans nos cultures, en effet, toutes les possibilités physiologiques d'un microbe peuvent s'exalter puisqu'il n'y a pas de concurrence vitale. Dans la nature, au contraire, toute réaction biologique est limitée ou exaltée par une réaction voisine. Il s'exerce une lutte incessante ou une synergie puissante entre toutes les activités. Cependant, il est logique de supposer que la plupart des bactéries décrites, toutes isolées du sol, se retrouvent dans les ordures où leurs différentes activités se manifestent quand les conditions de température et d'humidité sont réalisées.

Le Professeur GASPERINI, de FLORENCE, a étudié les phénomènes biologiques qui se produisent pendant la transformation zymothermique des ordures ménagères. Nous décrirons la flore bactériologique mise en évidence au cours de ces travaux laissant de côté les phénomènes chimiques décrits dans la première partie de notre modeste ouvrage.

Pendant les premiers jours de la fermentation, c'est-à-dire pendant la période de fermentation à la température ambiante, on note la présence de bacilles du groupe des liquéfiant, des chromogènes et des bacilles du groupe Coli, tandis que, de la masse, se dégagent des odeurs putrides. A partir du cinquième au sixième jour, moment où la température atteint 50 à 70°, toute odeur nauséabonde disparaît, c'est alors le règne de la fermentation thermophile qui commence. A ce moment, l'auteur a mis en évidence le *BACILLUS THERMOPHILUS GRIGNONI*, le *BACILLUS MESENTERICUS RUBER*, le *BACILLUS THERMOPHILUS TRICHOVAGINATUS*, le *BACILLUS THERMOPHILUS MUCORAMOSUS*.

A côté de ces éléments, existe une microflore complémentaire constituée par un complexe d'espèces qui se développent à la température ordinaire. Cette microflore résiste à la chaleur de la fermentation thermophile et reprend ensuite ses capacités de développement. On y rencontre : le *SPIRILLUM ROSEUM* de MACE, le *BACILLUS POLYMORPHOTESTAEUS*, le *MICROCOCCLUS RUBER*, le *CERASINUS*, l'*INCARNATUS*, le *CANDIDUS*, le *SACCHAROMYCES MINOR* de HENGEL, ainsi que de nombreux actinomyces.

CHAPITRE V

LES BACTERIES PATHOGENES ET LA THERMOFERMENTATION

Cette flore abondante varie donc avec chaque phase de la fermentation. Chaque série de bactéries cède le pas à la série suivante, de sorte qu'au moment où la température atteint 70-75°, seules les espèces thermophiles agissent, les autres ayant disparu. En particulier, les microbes pathogènes ne résistent pas. Certains auteurs se sont intéressés à la question. A NOVOLI, on a vu que le bacille du Charbon et ses spores sont tués le vingt et unième jour de la fermentation. M. GUILLERD a procédé lui-même à des études chimiques et bactériologiques, dans les dépôts contrôlés de LIANCOURT-SAINT-PIERRE (le principe de ces dépôts est très voisin de celui de la fermentation en vase clos) et a constaté que des tests spécialement préparés avec le bacille typhique, le bacille paratyphique B et le bacille Coli sont stérilisés après huit jours de séjour dans la décharge, la température se maintenant de 55 à 75°. De même, le Docteur MARÉCHAL, de BESANÇON, ayant introduit au sein de la masse en fermentation des cultures de bacilles de LOEFFLER, de streptocoques, de staphylocoques, de bacilles typhi-

ques, placés dans des récipients métalliques, constate qu'à la fin de l'opération les réensemencements restent stériles. Dans les mêmes conditions, des cultures anciennes de Charbon et de Bacille SUBTILIS sont restées stériles, sauf dans un cas. Les parasites, tels que, ascaris lumbricoïdes, ankylostomes, némathelminthes, anguillules intestinalis sont aussi détruits.

Ces procédés de thermofermentation présentent donc un gros intérêt au point de vue purement hygiénique.

CHAPITRE VI

LES BACTERIES THERMOPHILES ET LEUR ROLE DANS LA FERMENTATION DES ORDURES MENAGERES

Il nous a paru intéressant de vérifier l'action biologique des bactéries thermophiles que nous avons nous-même isolées sur des ordures artificielles. Ces ordures sont constituées surtout de débris végétaux : épluchures de fruits (pommes, poires), de débris de légumes (pommes de terre, carottes, céleris, salades, bettes, cardons) ; de quelques déchets de viande ; un peu de cendres, de la terre, des fragments de papier, du coton. Le tout finement coupé est introduit dans des flacons de 250 cc. A chaque flacon on ajoute 100 cc. d'eau peptonée pour assurer une certaine humidité.

EXPÉRIENCE N° 1. — L'expérience n° 1 est faite sur trois flacons renfermant une fraction des ordures précédemment décrites. Les flacons A et B sont stérilisés à l'autoclave 20 minutes à 120°. Aux flacons B et C on ajoute 20 cc. de culture en eau peptonée de notre bactérie C et on porte à l'étuve à 68°.

Par un dispositif spécial, grâce à une pompe aspirante, on fait passer plusieurs heures par jour, un courant d'air à travers la masse. (Dans nos expériences ultérieures, nous n'utiliserons plus ce dispositif d'aération : la masse d'ordures étant très faible, une agitation intermittente des flacons est suffisante pour assurer l'oxydation).

Au bout de 48 heures, nous constatons que dans les trois flacons, la masse d'ordures est devenue brunâtre et a diminué nettement de volume, même dans le flacon A présumé stérile. En dix jours, on note une transformation qui paraît complète, des ordures, en une sorte de masse noirâtre: seuls coton et papier sont restés intacts. Les ordures renfermées dans le flacon stérile se sont, comme les autres, transformées en terreau. Il nous fallut donc conclure, soit à une contamination, soit à la présence de bactéries sporulées ayant résisté à la stérilisation.

EXPÉRIENCE N° 2. — Nous portons à l'étuve à 68° :

1° Un flacon d'ordures stérilisées à l'autoclave 25 minutes à 120°.

2° Un flacon d'ordures stérilisées à l'autoclave, deux fois 25 minutes à 120°, à un jour d'intervalle.

3° Un flacon d'ordures non stériles.

Au bout de 48 heures, les ordures ont bruni et se sont tassées. Nous faisons alors un prélèvement aseptique à la pipette Pasteur, dans chaque flacon, et ensemençons respectivement en eau peptonée. Nous portons une série de tubes d'eau peptonée à l'étuve à 68° et une autre série à l'étuve à 37°.

En 24 heures nous constatons que des tubes à 37°, seuls les tubes correspondant au flacon III ont poussé très légèrement et seulement en surface. Au bout de dix jours, la culture n'est pas plus abondante. Les bactéries susceptibles de végéter à 37° sont sans doute déjà annihilées en partie par la flore thermophile. Les flacons I et II ne renferment donc aucune bactérie susceptible de végéter à 37°. Par contre, à 68°, toutes les cultures sont positives en 24 heures :

Les cultures qui correspondent au flacon I présentent un léger trouble homogène avec une pellicule mince à la surface du liquide.

Les cultures correspondant au flacon II, présentent un trouble avec des grumeaux en surface.

Les cultures correspondant au flacon III présentent un abondant trouble homogène.

Dans les trois séries, les recherches d'indol et d'hydrogène sulfuré sont négatives. Nous pratiquons l'isolement en gélose lactosée tournesolée : le flacon I donne des colonies bleues très grasses, le flacon II donne de petites colonies arrondies, rosées, très grasses, de tailles irrégulières. Le flacon III donne des colonies jaunes qui virent au bleu à l'air et des colonies bleues très grasses.

Une colonie de chacune des boîtes est ensemencée en eau peptonée. A partir de cette culture, nous utilisons différents milieux, voici les résultats obtenus :

BACTERIES ISOLEES			
	du flacon I	du flacon II	du flacon III
Lactose	—	+	+ j.
Maltose	+	+	+
Glucose	+	+	+
Saccharose	—	—	—
Mannite	—	—	+
Milieu bilié	+	—	+
Bile	—	—	—
Milieu nitraté	Gros dégagement d'N	—	—
Anaérobie	—	—	—
Gélose	—	Colonies rondes.	Grosses colonies grisâtres.
Sérum coagulé	Est légèrement attaché.	—	Très petites colonies grisâtres.
Blanc d'œuf	—	—	—

Au point de vue microscopique : le bacille I est épais à bouts arrondis, à Gram positif (la densité de la teinte violette est irrégulière). Le bacille II est un bacille nettement moins épais que le précédent et à Gram négatif. Le bacille III est un bacille épais granuleux, à Gram négatif.

Nous ne cherchons pas à identifier ces bacilles nettement thermophiles stricts avec les bacilles thermophiles déjà décrits, ce qui dépasserait le cadre de notre travail. Mais nous pouvons dire que les bactéries thermophiles sont très banales et qu'on les rencontre partout. Elles sont sans nul doute sporulées et ces spores sont particulièrement résistantes à la chaleur.

D'autre part, l'examen des ordures nous donne le résultat suivant : dans le flacon III, on observe une sorte de magma noirâtre qui dégage une odeur nauséabonde, le huitième jour, on a un terreau absolument noir, la cellulose elle-même a disparu. Les flacons I et II sont identiques : la transformation est nettement moins poussée que dans le flacon III, le

terreau est brunâtre. La cellulose n'a pas été attaquée. Aucune odeur nauséabonde ne s'en dégage. Au bout de trois semaines, on ne note pas de changement plus apparent en I et II, mais en III, on a une transformation complète des ordures en une boue noirâtre.

De ces expériences on peut donc conclure que les bactéries thermophiles d'une part, sont particulièrement résistantes à la chaleur et que, d'autre part, une seule espèce de thermobactérie ne suffit pas à assurer la transformation des ordures en terreau.

CONCLUSIONS

I. — C'est en appliquant le principe de la thermofermentation du fumier en vase clos que l'on est arrivé à réaliser un traitement des ordures ménagères en cellules spéciales dites cellules zymothermiques qui présentent pratiquement un grand intérêt. Ces procédés sont dits procédés de la thermofermentation.

II. — La thermofermentation se produit sous l'influence d'une flore thermophile spéciale. Il y a intérêt à faciliter le développement de cette flore aérobie par une oxygénation active afin d'éviter tout phénomène de putréfaction. L'insufflation d'air chaud, activant l'élévation de température, amènerait une transformation plus rapide des ordures (12 jours au lieu de 25, MARÉCHAL).

III. — Ces procédés de thermofermentation présentent tous les avantages au point de vue hygiénique : ils ne nécessitent aucun triage préalable des gadoues ; les bactéries pathogènes, les parasites, les insectes sont détruits au cours du traitement, il n'y a aucun dégagement d'odeurs nauséabondes susceptibles de rendre insalubres les abords immédiats de l'usine.

Ces procédés sont applicables même aux localités peu importantes et fournissent à l'agriculture un terreau particulièrement fertilisant. Ils sont donc également intéressants au point de vue économique.

IV. — D'un terreau provenant d'essais de thermofermentation à BESANÇON, nous avons isolé et étudié trois bactéries thermophiles saccharolytiques, qui font partie de la flore nécessaire à la zymofermentation.

V. — Mais la collaboration d'autres espèces protéolytiques et lipolytiques est naturellement indispensable.

VI. — Il semble que la transformation des ordures ménagères par zymofermentation est due à l'intervention d'une flore microbienne abondante et variée, dont il serait nécessaire de poursuivre patiemment l'identification.

Vu :

LE DOYEN,

JEAN LÉPINE.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

A. ROCHAIX.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 13 Janvier 1939.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

- ALETRU (J.). — La destruction des ordures ménagères par incinération. *Thèse doct. méd.*, 1929, Paris.
- ANITSCHKOW (N. N.). — La question du rôle des bactéries thermophiles dans l'intestin de l'homme. *Central. fur. Bakt.*, 1906, **41**, 326-332 et 426-432.
- BARDOU (P.). — Etude biochimique de quelques bactériacées thermophiles et de leur rôle dans la désintégration des matières organiques des eaux d'égout. *Thèse Ph. Sup.*, 1906, Lille.
- BORDAS (J.). — Le traitement des résidus urbains par la fermentation en vase clos. *Ann. Hyg.*, 1927, 142-150.
- Les différents traitements des ordures ménagères. Etude d'un procédé de fermentation pour la fabrication du fumier artificiel aseptique et le traitement économique des résidus urbain. *Ann. Hyg.*, 1931, 238-262.
- BORDAS (F.) et BORDAS (J.). — Au sujet du traitement des ordures ménagères par la fermentation. *Ann. Hyg.*, 1936, 360-363.
- CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson et Cie, éd., 1933.
- CONFÉRENCE EUROPÉENNE D'HYGIÈNE RURALE (Genève, juillet 1931). — *Revue d'Hyg. et Méd. préventive*, 1931, **53**, 869.
- COOLHAS (C.). — *Centralb. Bakt.*, II, **75**, 161-170 ; 344-360, 1928. — **76**, 38-44, 1928.

- COUDRAY (G.). — Contribution à l'étude de la coloration de Gram. *Thèse Doct. pharm.*, 1929, Nancy.
- DUNEZ (A.). — Sur le rôle des bactéries thermophiles dans la fabrication du fumier artificiel. *Ann. Agro.*, 1933.
- DUPONT (C.). — Sur les fermentations aérobies du fumier. *C. R. Acad. Sc.*, 1902, **134**, 1449.
- Fermentations aérobies du fumier par bacillus mesentericus ruber et Bacillus thermophilus Grignoni. *Ann. Agro.*, 1902, **27**, 289-317.
- FROMAGEOT (Cl.). — Sur la production enzymatique d'H²S. *Enzymologia*, 1937, vol. II, fasc. 2.
- GASPERINI. — L'autoepurazione biologica dei rifiuti domestici. *Accademia dei Gerogofili*, 1934.
- GIRARD (L.). — Le nettoiemnt de Paris. Conférence faite aux Ingénieurs des Travaux publics de Paris (cité d'après Aletru J.).
- GRIMBERT (L.). — Diagnostic des bactéries par leurs fonctions biochimiques. *Thèse doct. Sc.*, 1903, Paris.
- GUITTONNEAU (G.). — Sur un bacille sporulé thermophile fonctionnant comme ferment lactique. *C. R. Acad. Sc.*, 1928, **187**, 69-72 ; **190**, 82.
- GUITTONNEAU (G.), DELAVAL (H.) et Mlle BÉJAMBES (M.). — Sur une fermentation lactique de certains sucres à la température de 70°. *C. R. Acad. Sc.*, 1928, **191**, 82-84.
- HUMERY (R.). — Les ordures ménagères de la région parisienne. Collecte évacuation, destruction, 1 vol. Dunod, éd., Paris, 1935.
- HUSSONG (R. V.), HAMMER (B. V.). — A thermophilic coagulating milk under practical conditions. *J. of Bact.*, 1928, **15**, 179.
- KHOUVINE (Y.). — *Thèse doct. Sc.*, 1923, Paris.
- Décomposition et synthèse de la cellulose par les bactéries. *Thèse Ph.*, 1934, Paris.

- KHOUVINE-DELAUNAY. — Le bacillus cellulosaе dissolvens et la fermentation de la cellulose. *C. R. Soc. biol.*, 1935, **119**, 1036.
- KRUYFF (De). — *Centralb. Back.*, II, **26**, 65-74, 1910.
- LAMARQUE. — Le problème des ordures ménagères. *Liberté du Sud-Ouest*, 30 novembre 1928 (cité d'après Aletru J.).
- LEMOIGNE (M.). — Minéralisation des composés azotés dans le sol. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, 1113.
- MARÉCHAL (E.). — Bacille thermophile et thermofermentation des ordures ménagères. *Revue d'Hyg. et de Méd. préventive*, 1936, **58**, 721-728.
- MARTIN (F.). — Les ordures ménagères. *Ann. Hyg.*, 1936, 284-308.
- MIQUEL (P.). — *Ann. Microg.*, 1888, **1**, 4-10.
- MONDON (E.). — Assainissement général des villes et des petites collectivités, 1031, t. I et II. Dunod, éd., Paris.
- NÈGRE (L.). — Les bactéries thermophiles. *Bull. Inst. Pasteur*, 1912, **10**, 385-395 ; 433-444.
- Bactéries thermophiles des sables du Sahara. *C. R. Soc. biol.*, 1913, **74**, 814.
- Bactéries thermophiles des eaux de Figuié. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **74**, 867.
- Etude biologique de la flore bactérienne thermophile du Sahara. *Thèse doct. Sc. Paris*, 1918.
- PARTRIDGE (M.). — Les décharges contrôlées d'ordures ménagères. *Ann. Hyg.*, 1937, 88-97.
- THINUS (L.). — Le traitement des ordures ménagères par la fermentation en vase clos. *Thèse doct. Méd.*, 1933, Marseille.
- TSIKLINSKI (Mlle). — Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme. *Ann. Inst. Pasteur*, 1913, **17**, 217-240.

- VEILLON (R.). — Sur quelques microbes thermophiles strictement anaérobies. *Annales Inst. Pasteur*, 1922, **36**, 422.
- WAKSMAN (S. A.). — Principles of soil Microbiology, 1931. Baillière, Tindall and Cox, éd., London.

Bibliographie citée d'après WAKSMAN :

- BLAU (O.). — *Centralb. Bakt.*, II, 1906, **15**, 97-143.
- FEIRER (A.). — *Soil. Sci.*, 1927, **23**, 47-56.
- GLOBIG. — *Ztschr. Hyg.*, 1888, **3**, 294-321.
- KROHN (V.). — *Suom. Tied. Toim A.*, 1923, **21**, 125.
- MACFAYDEN et BLAXALL. — *Journ. Path. Bact.*, 1894, **3**, 87-99.
- OPRESCU. — *Arch. Hyg.*, 1898, **33**, 164.
- RABINOWITSCH (L.). — *Ztschr. Hyg.*, 1895, **20**, 154.
- SAMES (T.). — *Ztschr. Hyg.*, 1910, **33**, 313.
- SCHILLINGER (A.). — *Hyg. Rundsh.*, 1898, 568.
- TSIKLINSKI. — *Arch. Pathol.*, 1898, **5**.
- WEINBERG (M.), NATIVELLE (R.), PRÉVOT (A.). — Les microbes anaérobies. Masson et Cie, éd., 1937.

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	9
Plan	11
Les ordures ménagères	13
Recherches personnelles sur les bactéries thermo- philes	25
Matériel d'étude et techniques	25
Thermobactérie A	32
Thermobactérie B	37
Thermobactérie C	40
Caractères communs et caractères différentiels de ces bactéries	47
Bactérie de Maréchal	49
Les bactéries thermophiles déjà décrites	50
La flore bactérienne des cellules zymothermiques . .	55
Les bactéries pathogènes et la thermofermentation.	57
Les bactéries thermophiles et leur rôle dans la fer- mentation des ordures ménagères	59
Conclusions	65
Bibliographie	67



BOSC FRÈRES, M. & L. RIOU

°° °° °° IMPRIMEURS-ÉDITEURS °° °° °°

°° 42, QUAI GAILLETON, 42 °°

°° °° °° °° LYON °° °° °° °°



